

中華民國第 62 屆中小學科學展覽會

作品說明書

高級中等學校組 動物與醫學科

團隊合作獎

052007

虎虎生「黑」--虎斑烏賊的成對敵對行為

學校名稱：國立新竹科學園區實驗高級中等學校

作者： 高二 尤映筑 高二 吳沛穎 高二 蔡晴如	指導老師： 揭維邦 石鎮瑋
---	-----------------------------

關鍵詞：虎斑烏賊、敵對行為、黑色眼環

摘要

科學家並無發現虎斑烏賊 (*Sepia pharaonis*) 有領域行為，卻有論文顯示過度密集的環境中烏賊會互食、競爭。因此我們在特定空間中的進行實驗，發現烏賊間會出現黑色眼環、眼點或體緣螢光變色的現象，且從影片中可觀察到雙方會頭對頭互繞公轉，形成類似「對峙」狀態。因此我們當烏賊持續出現眼環、眼點或體緣螢光變色及兩者互相環繞時，稱之為「敵對行為」。依符合定義之程度及顏色深淺判斷其表現強弱，發現其中小烏賊的敵對行為普遍表現較強烈，然而捕食成功率卻遠低於大烏賊，可知敵對行為表現強弱與捕食成功率無直接關聯。此外，相較於單獨攝食，若成對烏賊產生敵對行為，會顯著延長攝食時間。

壹、前言

一、研究動機與文獻回顧

前人的研究證實，屬於軟體動物門頭足綱的烏賊，智商約莫等於一、兩歲的幼童 (Huang, *et al.*, 2019)。具有高度的認知及學習能力，是無脊椎動物中智商最高的物種。而從生物演化的歷史來看，頭足綱和哺乳綱的共同祖先需追溯至六億年前。其後烏賊逐漸發展出其特有的身體構造。但其腦神經迴路的複雜程度卻與哺乳類動物近似，同樣具有中樞神經系統、周圍神經系統，及交感神經系統。且其外套膜 (mantle) 具有巨大神經元，因此頭足類時常被使用於神經科學研究中的電生理研究材料。

一般學界普遍認為烏賊是獨居動物或半獨居動物 (Boal, *et al.*, 1999)，目前也沒有論文指出烏賊具有群居的現象。但是某篇論文顯示，在實驗室內圈養烏賊不能過度密集。若是太過密集，小烏賊會被大烏賊欺壓，出現營養不良的情形；除此之外，烏賊若發現在一定的空間範圍內出現多隻同類，會因為環境壓力，而侵略並互食其他烏賊 (Jiang, *et al.*, 2020)。

對所有動物而言，生存的三大條件便是居住環境、食物的取得以及交配的權利。因為野外的烏賊並沒有固定的居所，沒有人知道一隻烏賊的出沒範圍到底有多大；相對實驗室中飼養的烏賊多半以多個隔間圈養，在被迫進行團體生活的情況下，許多有關烏賊社會階層的研究都提及這些研究結果可能僅出現在實驗室中 (Lord, *et al.*, 2021)。但由於烏賊擁有防禦性高的墨汁和柔軟善於逃跑的身體，甚至有些烏賊具有毒性，因此要研究其生存領域相當困難，至今還沒有野外觀察的證據證明烏賊會捍衛自己的領域。

敵對行為的發生在各個物種間甚是常見，舉例來說雄性個體常以威嚇表達其攻擊性，尤其是對其他具有侵略意圖的雄性個體提出不得侵入自己領域的警訊。雖然這種行為看似違反

社會性，但它卻維持著社會的秩序，對於領域和社會階級的排序尤為重要。許多動物都有敵對行為，為了捍衛自己的食物和交配權，他們可能會攻擊或侵犯其他個體。

已知烏賊在野外是獨居動物，因此關於烏賊是否有領域行為、敵對行為及敵對行為如何表現等問題在實地考察方面皆有一定的困難程度，使科學家們現今還無法獲得答案。研究海洋生物的科學家Joshua Lord曾在論文中寫到：「頭足類無數的防禦機制（墨汁、偽裝、柔韌性、毒性）可能會降低庇護所對於這些生物的價值。但無論如何，這方面的確是欠缺研究的。未來會更著重在兩隻頭足類的相遇，即使只是得知牠們的相遇率也好，這些都大大促進了我們對頭足類社會系統的了解。」（Lord,*et al.*,2021）

因此我們設計了實驗使兩隻烏賊在有限的空間中相遇，希望能更加瞭解烏賊對於同類所展現的敵對行為。

二、實驗目的

（一） 了解烏賊成對情況下的體色變化

1. 兩隻烏賊同時身處在一個空間時的行為反應
2. 兩隻烏賊於成對狀態的體態和體色變化

（二） 探討黑色眼環（成對情況時出現機率100%）的出現原因：分析食物出現或者競爭者出現這兩種情況下，烏賊的體色變化異同。

1. 烏賊單獨身處一個水箱的體色
2. 烏賊遇到蝦子時的體色變化
3. 兩隻烏賊相遇時的體色變化

（三） 探討烏賊體長比例與敵對行為之間的關聯

1. 敵對行為的產生是否跟烏賊相對體型大小有關
2. 敵對行為的表現強弱是否跟烏賊相對體型大小有關
3. 烏賊的相對體型大小與捕食成功是否有關

（四） 探討烏賊的敵對行為是否會影響攝食行為

1. 敵對行為是否會影響延長烏賊攝食時間

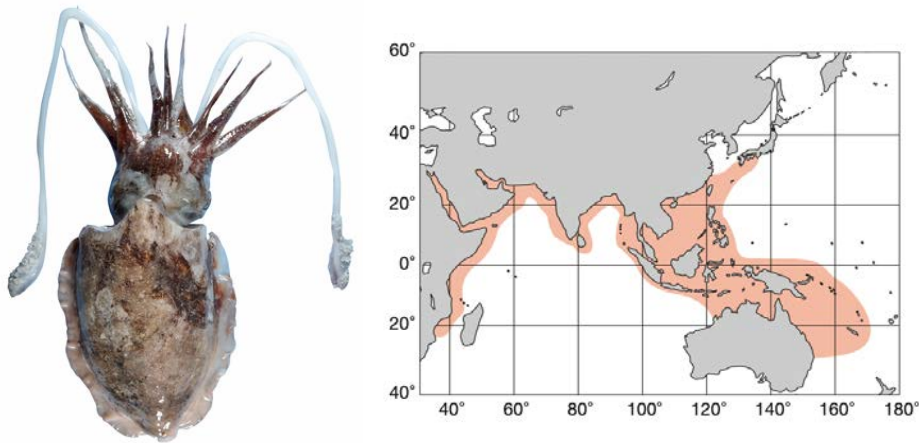
2. 敵對行為是否會提高烏賊搶食成功機率

貳、實驗設備及器材

一、實驗動物：

(一) 虎斑烏賊

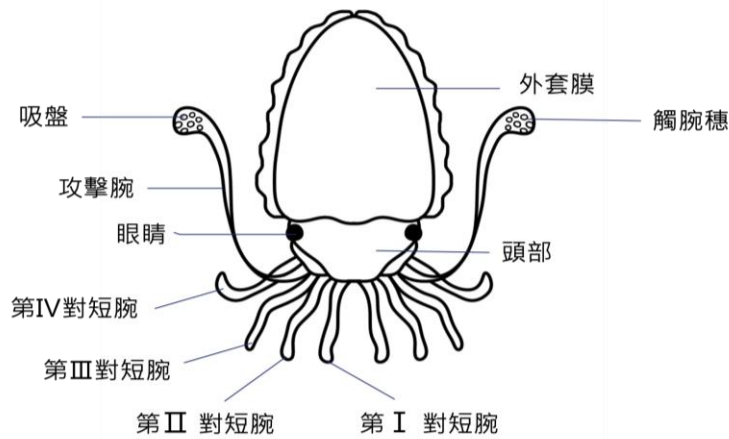
俗稱花枝或是墨魚的烏賊，在分類系統中屬於墨魚科墨魚目。在本次實驗中，使用的是來自台灣基隆的虎斑烏賊（圖一左），學名 *Sepia pharaonis* Ehrenberg, 1831。虎斑烏賊主要的分布區域為台灣海峽、南海、阿拉伯東部等溫暖的淺海區（圖一右）。其產卵期約在春夏兩季，卵的孵化期可長達一至兩周。虎斑烏賊的壽命約為九個月，人工飼養的壽命可能因生存空間限制和飼養方式等有所差異。也因為其壽命短且可以人工飼養，所以是個非常理想的模式生物。



圖一：左圖為虎斑烏賊。右圖為虎斑烏賊主要分佈區域。

(二) 虎斑烏賊與攝食相關的身體構造

虎斑烏賊的身體主要可區分成三個部分，外套膜（mantle）、頭部和足部。主要捕食構造由一對攻擊腕（tentacle，又稱長觸腕）以及四對短腕所組成。攻擊腕位於第Ⅲ對短腕和第Ⅳ對短腕之間，平常收納於觸腕囊（pouches）內。鎖定獵物後，會慢慢接近獵物，然後快速射出攻擊腕捕抓。



圖二：虎斑烏賊之身體構造。

(三) 虎斑烏賊的捕食過程

多數烏賊使用攻擊腕來捕獵的過程可分為三階段：**注意 (attention, 或稱注視)**、**定位 (positioning)** 以及**捕食 (seizure)** (Messenger, J. B., 1968)。第一階段注意時，烏賊發現獵物後會持續追蹤獵物，將短觸腕呈三角形轉向獵物。定位階段時，會調整自己的速率，嘗試與移動的獵物同步，並緩慢趨向獵物，將距離縮短到約一個烏賊體長。注視與定位進行多次交替，創造出最佳捕食時機後，烏賊才會進入捕食階段，發射攻擊腕捕抓獵物。

(四) 虎斑烏賊的體色變換機制

烏賊能藉由變換體色、斑紋和姿勢等複雜的神經控制行為，在物種之間或同物種內進行交流。烏賊透過外壁的色素細胞 (chromatophores) 和神經肌肉，控制體斑 (body pattern)。此外還有兩種類型的光反射細胞——虹彩色素細胞 (iridophores) 以及白色素細胞 (leucophores) ——有助於動物調整體斑變化。虹彩色素細胞受神經控制，選擇性地反射產生螢光藍色、綠色和粉紅色的光。白色素細胞亦可反射光線，形成高對比度的白色外觀。

(五) 實驗用烏賊數量

在實驗中，依據烏賊的體型大小區分為兩組。體型較小的烏賊設為 (M 組) 有六隻，平均體長為 5.3 公分；而體型較大的烏賊 (L 組) 也是六隻，平均體長為 7.2 公分。在實驗進行前，會將每一隻烏賊進行編號以方便分辨。

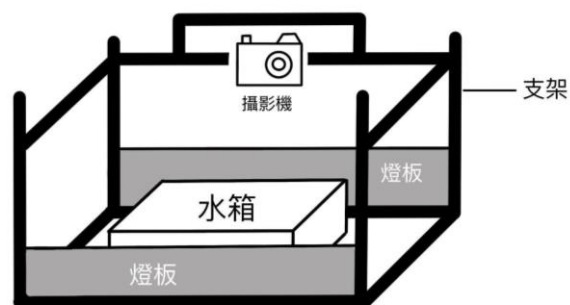
(六) 實驗室生物之安全審核：本實驗使用之動物已通過指導老師所在學校的實驗動物照護。

二、實驗設備及軟體簡要說明：

- (一) 實驗設備：如圖三及圖四。
- (二) 飼養用水缸：尺寸為長180厘米，寬58厘米，深39厘米。水箱內有放置許多飼養盒，每單位飼養盒可以隔間方式放置實驗烏賊數尾。
- (三) 壓克力實驗缸：長394釐米，寬224釐米，深124釐米。在實驗槽的一角有邊長7釐米的正方形洞孔以固定透明軟管。進行實驗前將實驗槽利用壓克力板平分為兩部分，每一個空間內長214釐米，內寬189釐米，在兩個空間內各放置烏賊乙隻。
- (四) 保麗龍板：置於壓克力實驗槽下方，承接由實驗槽流出的水。底部一側具有可插入透明軟管的洞口，多餘的水由透明軟管流回飼養用水缸，形成循環。
- (五) 透明軟管：為使實驗槽內的水流通，使烏賊獲得足夠的氧氣，在實驗槽的一角插入透明軟管，並將軟管的另一端置入飼養缸中，利用虹吸原理使水充分流通。
- (六) 實驗用LED光源：藉由感應調節亮度，調整為適合烏賊的光線。
- (七) 高像素攝影相機
- (八) 架設攝影機之支架：攝影機水平架設於支架上方，以俯視的視角拍攝。



圖三：實驗設備。左圖為實驗完整裝置圖，右圖為實驗用壓克力水箱。



圖四：實驗裝置簡圖。

三、數據分析軟體Fiji：先行下載Fiji的其他應用程式FFmpeg，利用此程式匯入實驗影片。接著利用Fiji中的長度測量功能進行烏賊體長的測量。

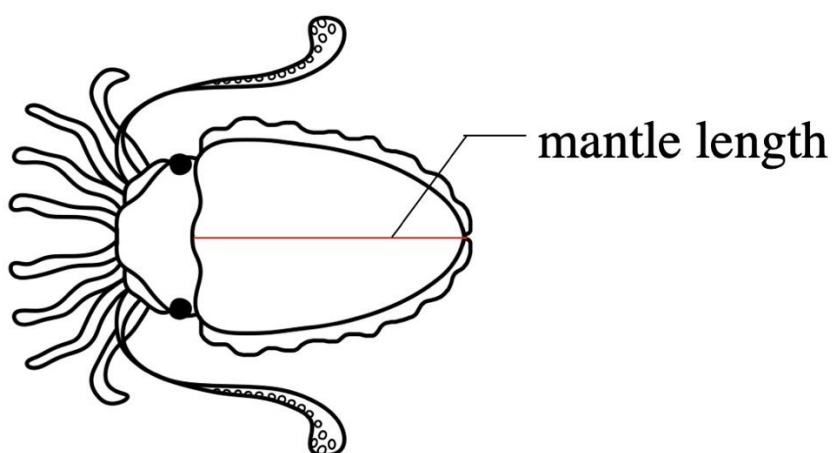
參、研究過程或方法

一、名詞定義：定義以下實驗過程以及數據分析將提及的名詞

(一) 型態

1. 體長 (mantle length)：

外套膜 (mantle) 也就是烏賊的身體，位於頭部後側至終端，內部包含空腔、內臟及骨板。體長由外套膜前緣 (靠近頭部側) 直至後端，或者身體兩側鰭 (fin) 的交會點。取最長距離，相當於體內的骨板的長度。體長為直線測量，而非生物體上的曲線測量。如圖五所示。

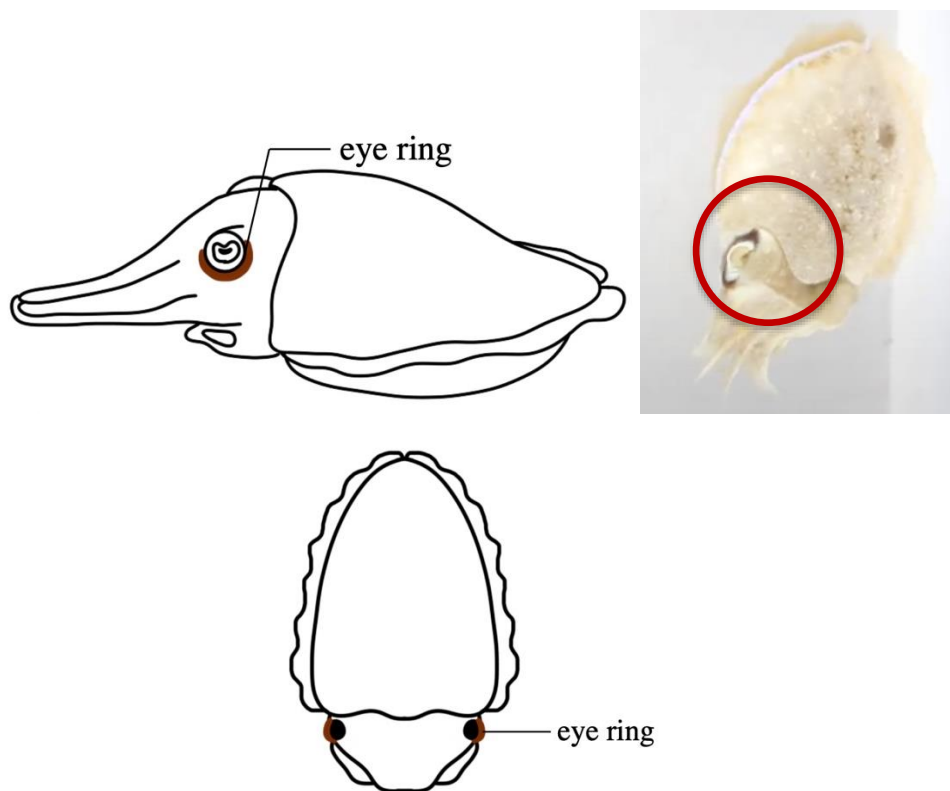


圖五：虎斑烏賊體長示意圖。

(二) 體色分析

1. 眼環 (eye ring)：

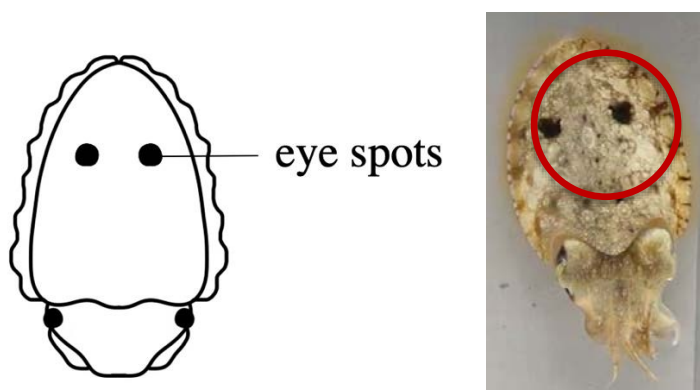
沿著眼睛下緣的黑褐色半圓形帶狀，通常與擴張的瞳孔一起出現，使眼睛看起來更大。如圖六所示。



圖六：虎斑烏賊眼環示意圖。

2. 眼點 (eye spots)：

又稱眼斑 (paired mantle spots)，是一對位於外套膜後側黑色圓點，可以成對出現，也可以單獨出現在外套膜左後方和右後方。這些斑點與一種擬態體斑¹相關，是一種由潛在威脅引發並指向潛在威脅的種間信號 (interspecific signal)。如圖七所示。

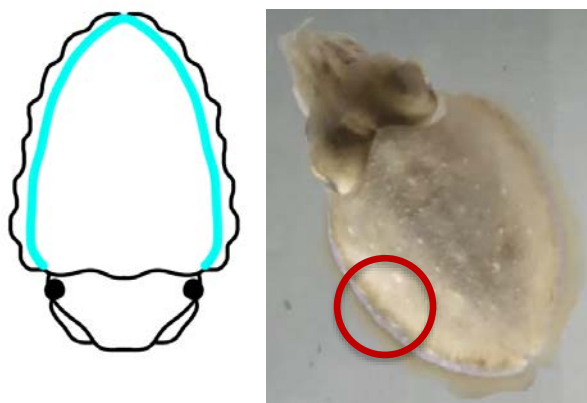


圖七：虎斑烏賊眼點示意圖。

¹ 擬態體斑(deimatic pattern):又稱驚嚇展示(startle display)，是指動物缺乏強大防禦能力的虛張聲勢行為，以嚇跑或暫時分散捕食者的注意力，從而使自身有機會逃脫。例如突然出現明顯的眼斑。deimatic 或dymantic 一詞源自希臘語 δειματόω (deimatáo)，意思是“嚇唬”。許多動物，包括昆蟲中的飛蛾、蝴蝶、螳螂，頭足類動物中的章魚、魷魚、烏賊也都具備驚嚇展示的能力。

3. 體緣螢光變色 (mantle margin stripe) :

一條可同時或分別呈現螢光藍色、白色和暗紅色的虹彩條紋，沿著整個外套膜邊緣縱向延伸，位於勾勒出外套膜輪廓的鰓基部，有助於形成擬態體斑。如圖八所示。

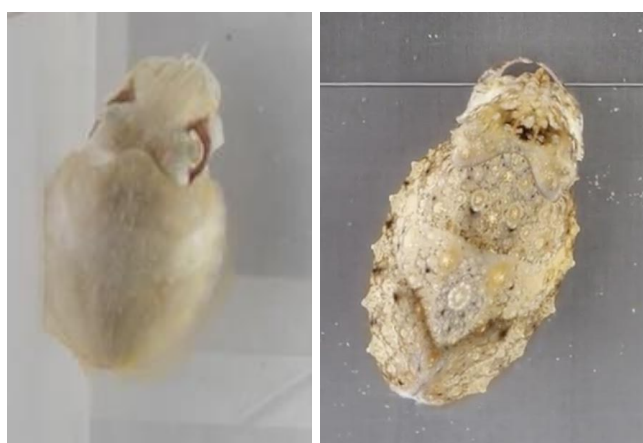


圖八：虎斑烏賊體緣螢光變色示意圖。

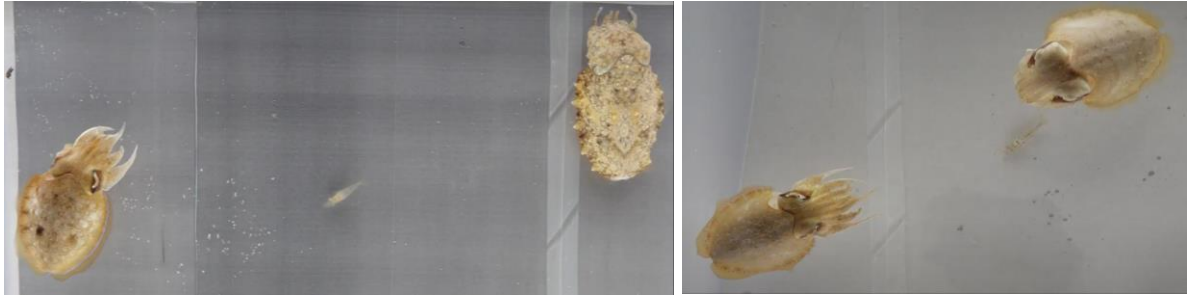
(三) 行為

1. 敵對行為 (aggression) :

以烏賊出現黑色眼環為基準，更進階的展現例如眼點或體緣螢光變色，或是以對方為圓心繞其公轉或聚攏第I、II、III對觸腕的行為表現。可能兩隻烏賊同時存在敵對行為，亦可能發生僅單獨一方呈現敵對行為的情況（圖十）。敵對時間計算的開始即為敵對行為的開始。



圖九：左圖為烏賊身體全白之樣態。右圖為烏賊冷靜時的斑紋。



圖十：左圖為單方（左下角烏賊）產生敵對行為，右圖為雙方同時產生敵對行為。

2. 捕食時間：

自蝦子放入水中開始計時，直至烏賊發射出攻擊腕，成功抓獲獵物的瞬間。停止計時瞬間如圖十一所示。



圖十一：虎斑烏賊捕食時間結束瞬間之示意圖（攻擊腕碰到獵物瞬間）。

二、前置流程

（一） 實驗環境前置條件

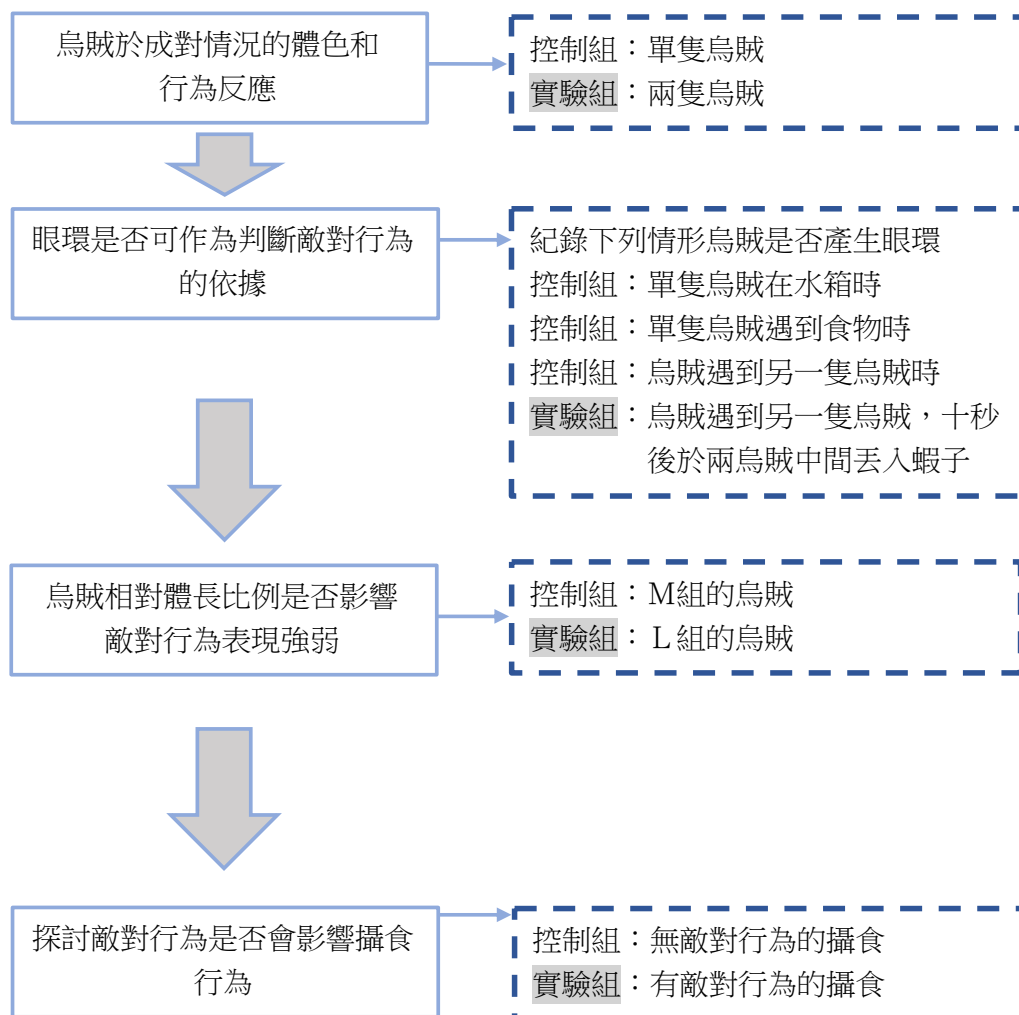
1. 在實驗進行之前以不透明隔板區隔兩隻烏賊：烏賊在進入新環境時需要足夠的時間適應，利用不透明隔板區隔兩隻烏賊使其不因為看見對方而無法冷靜或影響實驗準確度。
2. 確認烏賊在實驗之前並沒有遭到餵食。確保烏賊有進食的慾望，並且增加其捕食的積極度。
3. 進行實驗前測試烏賊視力是否正常。利用鑷子夾取食物（蝦子），在烏賊眼睛周圍環繞擺動，觀察烏賊是否有反應。此舉是為了保證烏賊本身的缺陷不影響實驗的準確度。
4. 將光源放置於實驗缸的左右兩側而非上側。白光由上方向下照射會於水面產生反光，導致拍攝畫面部分不清楚。
5. 將霧面的半透明板或護貝的黑色板子緊貼在實驗缸的周遭四側以及底面。實驗缸的材質為透明壓克力水缸，增加霧面半透明版的放置，可以避免反射，杜絕烏賊因為看到自己的倒影而產生恐慌的機會。

- 利用透明軟管的連接使實驗缸中的水持續流動。由於實驗缸並沒有專屬的打氣系統，運用虹吸原理，將一條透明管連接至較高處的飼養缸使水由飼養缸流至實驗缸，再利用另一條透明管連接至較低的飼養缸使水由實驗缸流至飼養缸。

(二) 實驗動物前置條件

- 依年齡將烏賊分成體型較大的L組以及體型較小的一組M組。
- 使烏賊挨餓一餐（實驗前一天晚上餵食後至實驗進行前都不進行餵食），以增強捕食意願。
- 確認烏賊生理狀況，並且測試其視力是否健全和是否具有捕食慾望。
- 挑選符合實驗要求的兩隻烏賊。
- 將烏賊從飼養缸移置實驗缸，以不透明白色隔板相隔，靜置10分鐘等待烏賊適應環境及光線。

三、實驗架構



圖十二：實驗架構圖

四、實驗步驟

所有的實驗都以錄影方式紀錄，並利用影片進行數據分析。

(一) 觀察兩隻烏賊共處一室的體色變化之步驟

1. 將兩隻烏賊放入同一個空間，以隔板相隔
2. 直至兩隻烏賊都冷靜下來，拿起隔板，使其面對面
3. 觀察烏賊的體色變化和行為表現

(二) 探討烏賊黑色眼環（敵對狀況中出現機率100%）的出現原因

1. 烏賊於單獨水箱中的體色變化
 - (1) 將烏賊放在單獨水箱中，待烏賊冷靜下來
 - (2) 觀察烏賊於單獨水箱中的體色變化
2. 出現獵物時烏賊的體色變化之步驟
 - (1) 水箱中間以不透明隔板相隔成兩個區域，將烏賊置於其中一個區域內
 - (2) 待其冷靜後放入蝦子
 - (3) 觀察烏賊的體色變化
3. 成對烏賊相遇時的體色變化
 - (1) 水箱中間以不透明隔板相隔成兩個區域，將烏賊置於其中一個區域內
 - (2) 待其冷靜後抽取不透明隔板使兩隻烏賊相遇
 - (3) 觀察烏賊的體色變化

(三) 影響烏賊表現敵對行為之強弱的因素之步驟

1. 隨機各取一隻尺寸明顯不同的烏賊，放入實驗裝置中
2. 待其冷靜後，使兩隻烏賊對峙10秒
3. 放下蝦子
4. 以肉眼可見的體色變化明度、深淺以及出現體色的種類多寡，判斷哪一隻烏賊的敵對行為較強烈

(四) 探討敵對行為是否影響攝食行為

1. 單隻烏賊捕食時間之步驟
 - (1) 使烏賊在不受外界干擾下的狀態下進行實驗
 - (2) 將一隻烏賊放入水箱中待其冷靜
 - (3) 開始實驗後丟入一隻蝦子
 - (4) 計算烏賊的捕食時間
2. 成對烏賊在同一個空間下的搶食行為之步驟

- (1) 直到兩隻烏賊都冷靜下來，拿起隔板，使兩隻烏賊面對面
- (2) 十秒後丟入一隻蝦子
- (3) 觀察烏賊的體色變化和行為表現，且計算吃到蝦子的烏賊之捕食時間

肆、研究結果

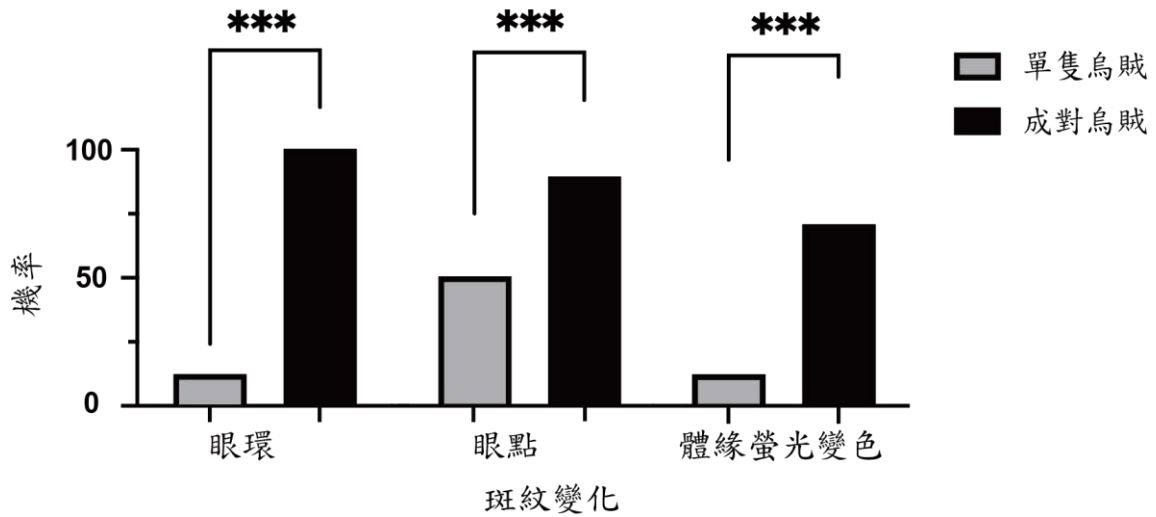
一、前置分析：烏賊體長比值測量

每次進行實驗時相機擺放高度均相同，然而因為拍攝角度以及烏賊在水中的深淺不同，導致測量烏賊體長時會有些許的誤差，為了確保測量數據的精準程度，在測量體長採用的方法如下。

- (一) 若烏賊狀態良好，則一組實驗進行六次。測量兩隻烏賊在六次實驗中的體長，分別紀錄。
- (二) 取每一隻烏賊所得數據之平均值。
- (三) 將所有數據進行標準誤差的計算，得出標準誤差的數值。
- (四) 將平均值加減一個標準誤差，得出體長數值的範圍。
- (五) 檢視初始數據，不在此範圍內的數據不列入計算。
- (六) 取所剩數據的平均值，得到兩隻烏賊之體長數據。
- (七) 將「體長相對較長之烏賊體長數據」除以「體長相對較小隻烏賊體長數據」，及得到兩隻烏賊相對體長之比值。

二、實驗一：觀察兩隻烏賊共處於一個空間的行為和體色變化

此實驗中所使用的兩隻烏賊為L組的一隻烏賊和M組的一隻烏賊隨機搭配。此實驗中我們以較顯著的體色變化來進行觀察和統計，主要包含黑色的眼環（eye ring）、烏賊背上的眼點（eye spots）以及體緣螢光變色（mantle margin stripe）。反覆進行將兩隻烏賊放入同一個空間的實驗90次後，得到的體色變化機率圖如圖十三。



圖十三：不同情況時，烏賊出現不同體色變化之機率圖。

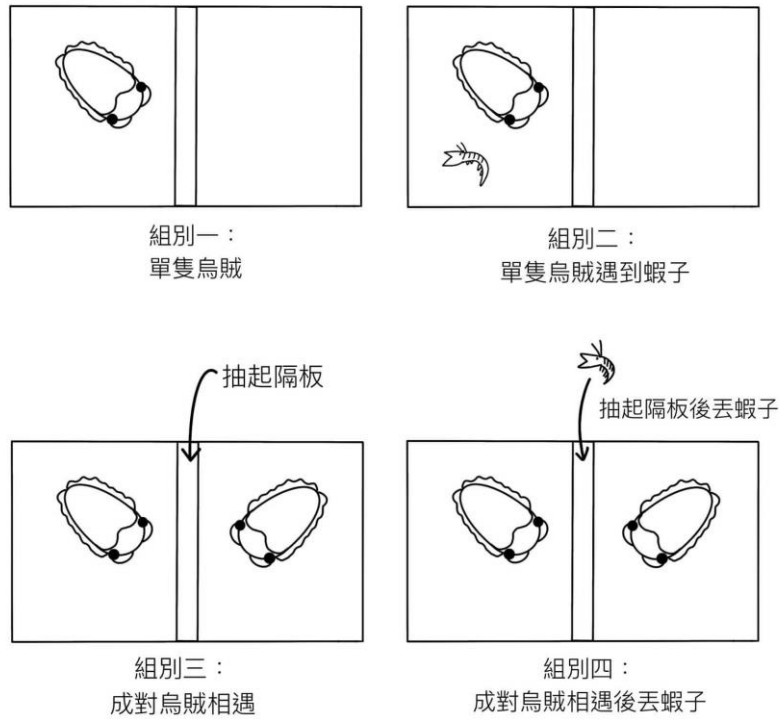


圖十四：左圖為烏賊產生黑色眼環示意圖。中圖為烏賊背部產生眼點示意圖。右圖為烏賊產生體緣螢光變色示意圖。

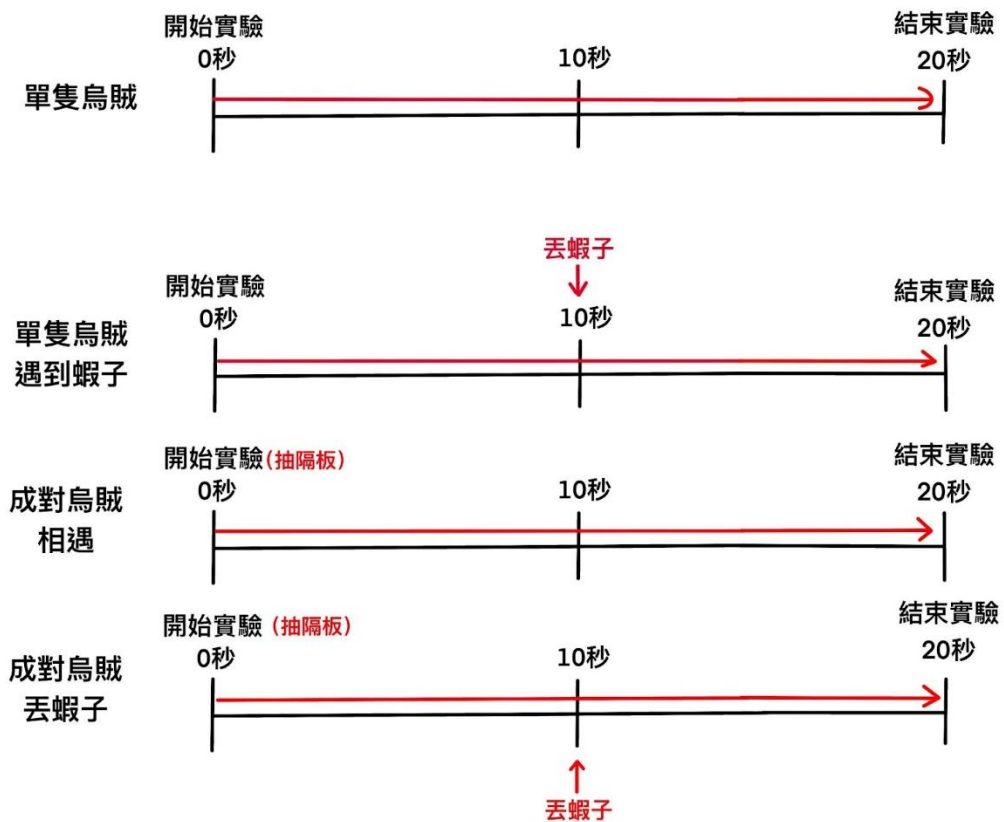
在行為表現上，烏賊會用第III對觸腕立起身體，聚攏第I、II、III對觸腕，呈現站起身的姿態。有些烏賊會更進一步的在體表產生變色後，共同環繞著一個圓沿著圓周移動，並藉此觀察敵方。

三、實驗二：黑色眼環是否可以做為敵對行為的判斷依據

由實驗一可知，兩隻烏賊共處一室時，黑色眼環是必然出現的體色表現。為了得知黑色眼環的出現是否可以做為判斷敵對行為的依據，我們置烏賊與不同的環境（圖十五），並且以圖十六的模式進行實驗，觀察烏賊於各種情形下的體色變化。

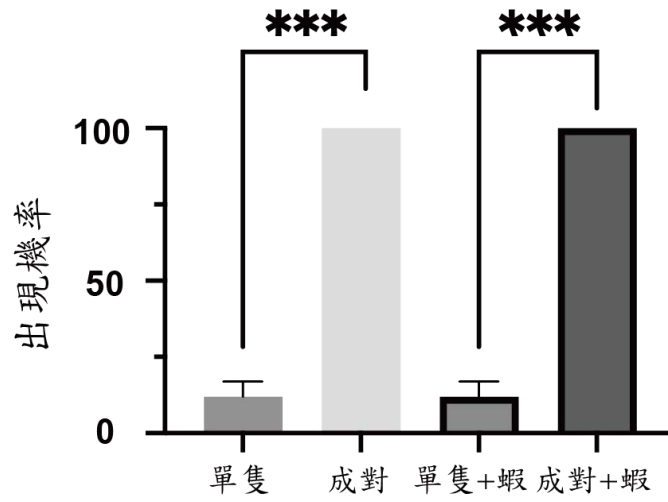


圖十五：實驗裝置示意圖。



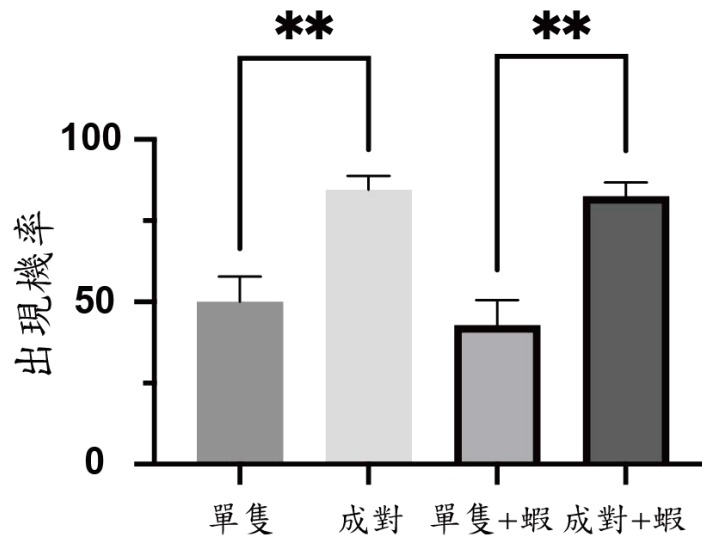
圖十六：實驗時長進行方式示意圖。

眼環



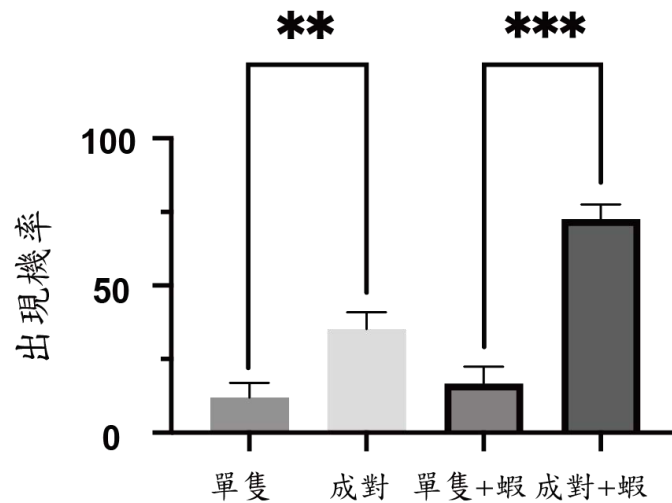
圖十七：不同情況眼環出現機率之長條圖。橫軸為不同情況；縱軸為眼環出現機率。

眼點



圖十八：不同情況眼點出現機率之長條圖。橫軸為不同情況；縱軸為眼點出現機率。

體緣螢光變色



圖十九：不同情況體緣螢光變色出現機率之長條圖。橫軸為不同情況；縱軸為體緣螢光變色出現機率。

由實驗結果可知，當單隻烏賊單獨處於一個水箱中出現眼環的機率（11.9%）以及單獨攝食時出現眼環的機率（11.9%），相較有成對烏賊相遇（100%）和搶食（100%）時的機率偏低（圖十七）。以眼點來看，單隻烏賊存在時的出現眼點機率（50%）、單隻烏賊攝食的出現眼點機率（42.86%）也低於成對烏賊相遇（78.95%）存在和成對烏賊搶食時（71.74%）（圖十八）。以體緣螢光變色來說，則以成對烏賊搶食時的出現機率（65.22%）最高，其次其次依序是成對烏賊存在（34.21%）和單隻烏賊攝食（16.67%）、單隻烏賊存在（11.9%）（圖十九）。

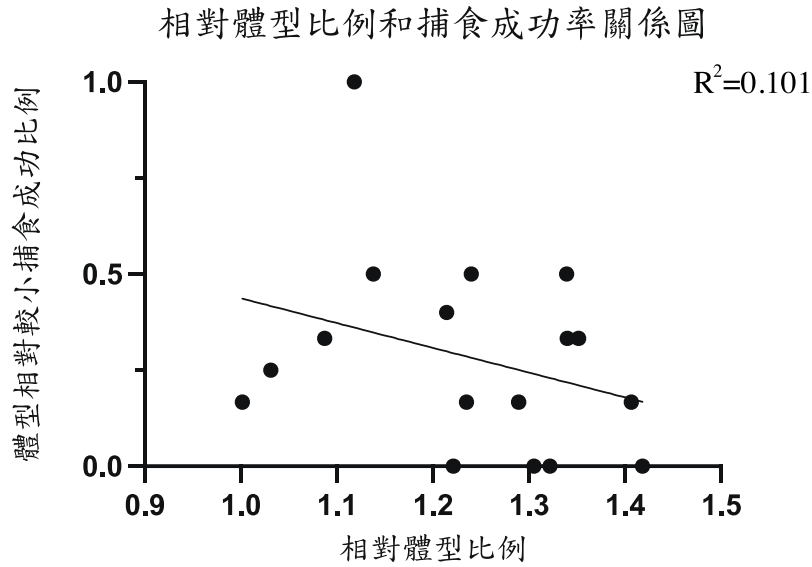
綜合以上，我們可以推論出現黑色眼環的確可做為判斷敵對行為的依據。

四、實驗三：烏賊的相對體型大小和敵對行為強弱之關聯

由「前置分析一」得出烏賊的相對體長比例比值的大小，由此數據進行以下的數據分析。

（一）相對體型比例以及相對體型小烏賊之捕食成功率的關係

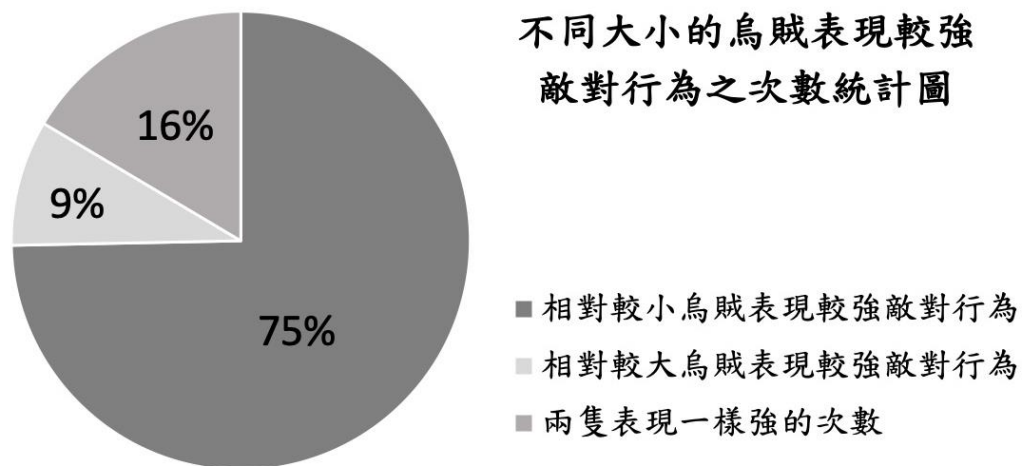
計算相對體型比例以及相對體型較小的烏賊之捕食成功率，由決定係數為0.101可知，相對體型比例以及體型相對較小的烏賊之捕食成功率並沒有直接的相關。



圖二十：相對體型比例（橫軸）和捕食成功率（縱軸）關係圖。各點為實驗結果；線條為趨勢線。

（二）相對體型比例以及敵對行為強弱的關係

經由計算，無論烏賊相對體型大小均有敵對行為的表現。我們根據烏賊處於敵對狀態時最常出現的三個體色：黑色眼環、眼點和體緣的變色深淺度、明度，以及烏賊的體態是否有呈現立起前肢、開始雙方環視等幾點來比較兩隻烏賊中誰表現較強烈的敵對行為。



圖二十一：較強烈敵對行為表現之比例圓餅圖。

實驗結果為，在79次實驗中，體型相對較小的烏賊表現較體型相對較大烏賊強烈的次數為59次，體型相對較大烏賊表現較強烈的次數為7次，兩隻表現一樣強度的次

數為13次。此現象顯示：**體型相對較小的烏賊較體型相對較大隻的烏賊表現敵對行為更加強烈。**

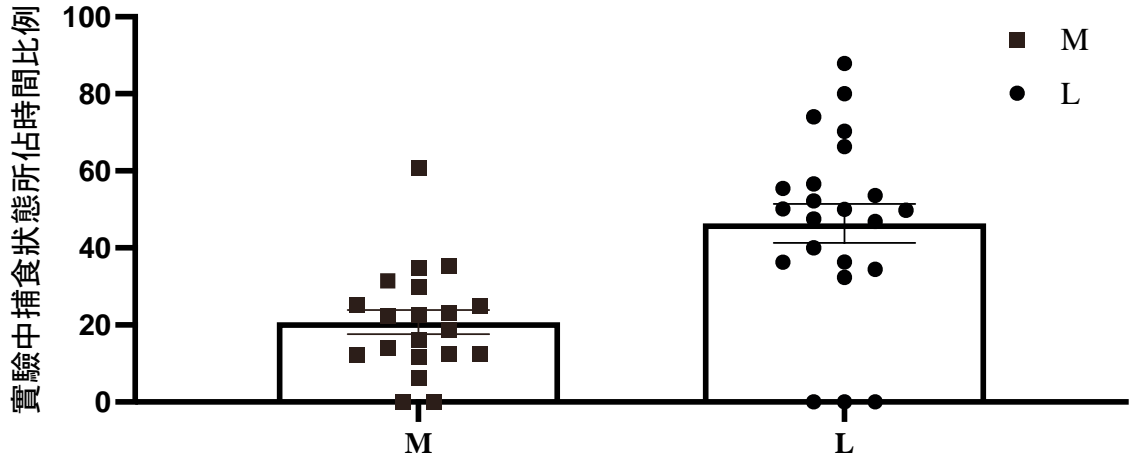
然而，計算烏賊的捕食成功情形（表一），可知體型相對較小隻的烏賊表現較強敵對性的情況而言，體型相對較小的烏賊捕食成功的次數僅有59次中的11次；而當體型相對較大隻的烏賊表現較強的敵對性時，體型相對較大的烏賊的捕食成功次數是7次中的4次，但本身體型相對較大的烏賊表現強烈的情況數就較少，因此較難進行分析。根據統計結果可見，體型最後是兩隻表現一樣強的敵對性的情況，體型相對較小隻的烏賊的捕食成功次數是13次的3次、體型相對較大隻的烏賊捕食成功次數是13次的10次。

除此之外，我們另於成對烏賊的搶食實驗中新增了透明隔板這個變因。即兩隻烏賊看到彼此時，中間還隔著一個透明隔板，且蝦子恆丟在體型相對較小的烏賊的那一方，因此體型相對較大之烏賊就算想吃蝦子也吃不到。我們以烏賊欲展現的行為模式分成三種：敵對狀態、捕食狀態，和什麼都沒做的的無反應狀態。捕食狀態即為烏賊的視線一直跟著獵物，反覆進行捕食三階段的attention、positioning、seizure；而敵對狀態就如之前所定義，出現明顯的黑色眼環。記錄兩隻烏賊處於捕食狀態的時長，結果長條圖如圖二十二。可以看到的是體型相對較大烏賊（L）在實驗中平均有46.38%的時間處於捕食狀態，而體型相對較小烏賊（M）則平均有20.72%的時間處於捕食狀態。進行不成對檢定後，得p值為0.0001，呈現顯著差異。由此可知，體型相對較大的烏賊（L）於實驗中呈現捕食狀態的時間較長。

表一：不同大小的烏賊較具敵對性的捕食成功次數。

當M更具敵對性時 其捕食成功次數	當L更具敵對性時 L的捕食成功次數	敵對程度相等時 M的捕食成功次數
11/59	3/7	3/13
當M更具敵對性時 M的捕食成功率	當L更具敵對性時 L的捕食成功率	敵對程度相等時 M的捕食成功率
18%	42%	23%

呈現狀態之時間佔實驗總時長之長條圖

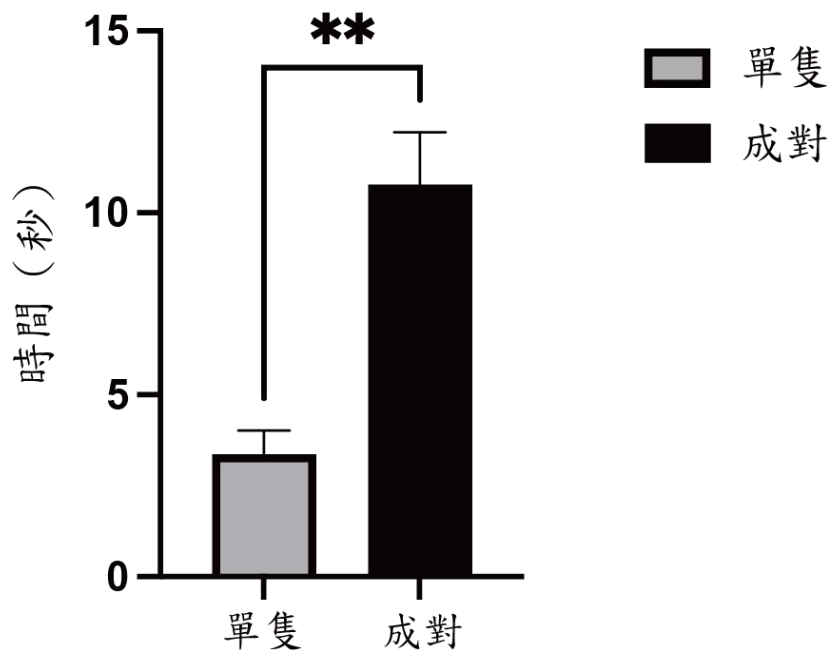


圖二十二：兩隻烏賊呈現捕食狀態之時間佔實驗總時長之長條圖。誤差線為其標準誤差，M組之值為3.12，L組之值為5.08。M為體型較小隻烏賊；L為體型較大隻屋賊。

綜合以上結果，體型相對較小的烏賊捕食成功率不受相對體型比例大小影響；然而相對體型比例大小和敵對強弱則有所關聯，體型相對較小的烏賊表現的敵對行為較為強烈；且當兩隻烏賊於透明隔板實驗中，體型相對較大之烏賊會較注重捕食這點可知，敵對行為的強弱與勝負之間沒有直接的關聯性。

五、實驗四：敵對狀態下與攝食時間之關聯

進行單隻烏賊在不受干擾下的正常捕食實驗作為實驗的對照組。



圖二十三：單隻烏賊和成對烏賊平均捕食時間

表二：成對烏賊與單隻烏賊的攝食時間平均數差異檢定結果圖。

t 檢定：敵對狀態下的攝食和單隻攝食時間平均數差異檢定

	變數 1	變數 2
平均數	3.37	10.78
自由度	4	
t 統計	-6.464	
P(T<=t) 雙尾	0.0029	

重複測量並記錄單隻烏賊在不受外界干擾下的正常捕食時間，並測量烏賊在敵對狀態下的捕食時間。以五隻不同烏賊的單隻攝食時間和雙隻搶食時間做比較，每隻烏賊會做六次實驗然後取其平均的攝食時間。單隻攝食情況下，平均時長為3.37秒，標準誤差為0.65，而雙隻搶食的平均時長為10.79秒，標準誤差為1.4。得出兩者數據後，將其進行獨立樣本t檢定，得出顯著性（p value）的值為0.0029，因為其數值小於0.05，差異顯著。可知烏賊的捕食時長會受是否處於敵對狀態影響。

伍、討論

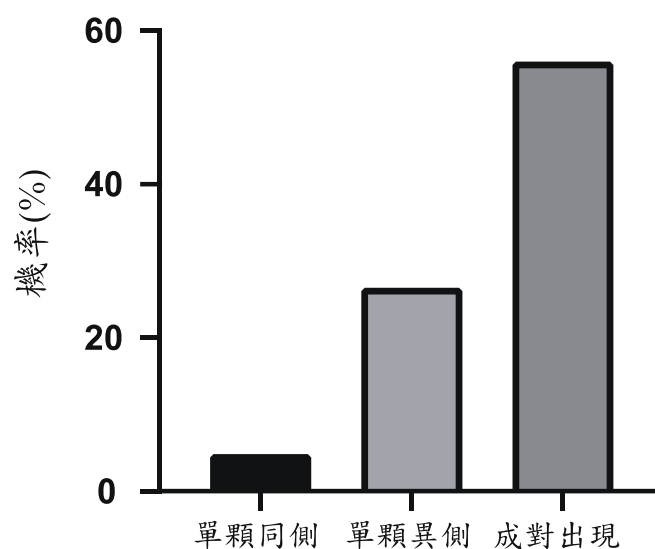
一、烏賊共處一個空間會有特定的體色變化及行為表現。觀察並統計烏賊較為明顯的體色變化，可知只有兩隻烏賊共處且兩者面對彼此時，必定會出現黑色眼環，而出現機率第二高的為背部眼點，第三則是體緣螢光變色。根據一篇在1999年發佈的論文（Hanlon, *et al*, 1999），以及一篇2017年發布的法老墨魚的斑紋、姿勢、運動行為論文（Nakajima & Ikeda, 2017），目前科學界對於黑色眼環一致的認知就是：其目的是為了讓眼睛放得更大，藉以達到威嚇敵人的功用，尤其會在周遭有威脅的時候更頻繁出現。至於眼點（eye spots）也被科學家認為有假眼的功用，當烏賊正在攝食、或是mantle的部分裸露在外時，眼點可以威嚇敵人、保護自己，而體緣的螢光條紋也是如此。在頭足類的論文中時常以deimatic這個單詞來形容這三種體班，意即：這三個體色是烏賊為了要虛張聲勢、阻止敵人靠近所產生的。其中尤其是眼環產生的機率最高，為100%。因此我們將眼環視為烏賊的敵對行為（aggression）的必要條件。在行為表現的方面，烏賊會用第四對觸腕立起身體，聚攏第一、二、三對觸腕，呈現站起身的姿態。

二、敵對行為的產生和相對體型大小目前觀察關聯較小，但強弱程度卻有關。

經過觀察可知無論兩隻烏賊相對體型大小，均會表現出敵對行為。且相對較小的烏賊表現敵對行為較相對大隻的烏賊更強烈，可知表現敵對行為的強弱程度和相對體型大小有關。

三、眼點出現於威脅的異側。藉由觀察烏賊呈現敵對行為時的斑紋表現，得知當烏賊感覺遭受威脅時，會有高機率出現眼點，且眼點出現的模式並不固定，可能是僅有單側出現眼點，抑或是成對同時出現，推測此現象為烏賊遭受危險時，用以威嚇敵人的自衛現象之一。正常情況下，其他物種感受危險時會將自身優勢朝向威脅，期望能對威脅造成驅趕的作用，而烏賊的擬態眼點方向卻不全然是朝向威脅，在所有烏賊出現眼點的實驗中，有63.96%的烏賊顯現成對的眼點，僅顯現單側眼點且與威脅不同側為30.46%，而同側則只有5.58%的機率，這種情況有違預期現象，推測可能是因為面向威脅的方向已經有眼環作為威嚇，而眼點則是用來防禦身後未知的環境。

眼點相對於威脅之出現方位統計圖



圖二十四：烏賊眼點出現方位機率統計圖。

四、烏賊特定體色變化之延伸實驗。由「討論一」可知，烏賊共處一個空間時會有特定的體色變化，可以增加進行以下的實驗，得出更完善的結果。**實驗一**：將兩隻烏賊置於同一個水箱中，以兩片不透明隔板區隔兩者。實驗開始後，抽取其中一片隔板製造水流的波動，此時兩隻烏賊仍被不透明隔板區隔著並無法看見對方。間隔一段時間後，再將隔板放回原本的位置，觀察烏賊是否產生敵對行為下之特定斑紋。若是產生斑紋，該斑紋的出現時間長度為何、時間長度是否會受體型大小或記憶影響。**實驗二**：重複實驗一的步驟，然而在抽取不透明隔板之後，分別在兩隻烏賊的空間中放入蝦子，觀察其體色變化。**實驗三**：若是增加兩隻烏賊的活動空間，烏賊的體色變化以及行為表現與先前實驗有無差距。經由上述實驗，可以對烏賊之特定體色變化有更明確且完善的了解。

五、推測烏賊具有領域行為。領域行為的定義是，動物透過各種方式來警告任何有競爭關係的個體不要靠近，以保護自己的空間和資源。領域行為是社會中分配資源的一種模式，動物宣告領域行為的方式有許多種，例如鳴叫、發出噪音、巡邏或不讓同種留下氣味或記號等。

這些行為可以增加生存、交配和撫育後代的機會。在實驗中最容易觀察到的是兩隻烏賊為了搶奪食物而產生敵對行為時，有眼環、眼點以及體緣螢光變色三種主要顯現其不歡迎對方的表現。然而在大多數的影片中可以發現到，在蝦子尚未放入實驗缸時，烏賊已經有敵對行為的表現，並且有互相環繞的現象。因此我們推測，此時的烏賊是在保衛自己的領域，不讓其他有競爭關係的個體靠近。

六、烏賊領域行為之實驗設計。已知領域行為的其中一項定義為保護自己的空間，因此進行以下實驗來佐證烏賊是否具有領域行為。將兩隻烏賊分別飼養在專屬的水缸中兩個星期，使其適應環境並且認定此環境為自己的領域範圍，再進行雙隻烏賊的搶食實驗。此水缸的配置為，兩隻烏賊分別以不透明隔板區隔，準備進行實驗時則直接抽取隔板使兩隻烏賊面對面，水箱直接變成實驗缸。觀察兩隻烏賊的反應是否與先前的實驗結果有所差異，藉以觀察烏賊在自己習慣的生存環境中是否具有更明顯的領域行為。

七、誤差討論。雖然我們已經盡力避免烏賊受到外界的干擾，在烏賊進行實驗以前做了許多前置準備，例如確定烏賊的冷靜狀態和食慾再進行實驗、確定光源強弱、水中溶氧量等等，但由於烏賊是個高智商且敏感的生物，可能還有許多我們未考量因素造成實驗數據產生誤差。舉例來說，在統計烏賊單隻存在時以及單隻攝食時的黑色眼環出現機率，由於我們是在烏賊平常的居住環境做實驗，有可能烏賊會受到環境水流的影響，或是因為感受到人的存在、空間太小等等使其產生黑色眼環。這個部分還有待我們有下一批烏賊卵以後，做下一階段實驗來確認。

陸、結論

一、兩隻烏賊在面對彼此時會產生特定的行為與體色變化，出現機率由高至低依序為產生黑色眼環、背上的眼點和體緣螢光變色，產生黑色眼環的機率為百分之百。

二、黑色眼環的產生是敵對行為下必然出現的條件，且與看見獵物（溪蝦的放入）和環境因素（水流）無關。

三、相對體長小的烏賊，表現敵對行為的程度較相對體型大的烏賊強烈，然而強烈的敵對行為表現與提高捕食成功率無正相關。

四、烏賊在有敵對行為產生的狀態下所進行的捕食，與單隻烏賊在毫無外界干擾下的攝食時間有顯著的差異。說明敵對行為對攝食行為產生明顯的影響。

柒、參考資料

一、中文部分

【參賽作品】

王立皓、李婉寧、陳謙毅（2020）。賊頭賊腦詭計多-應用機器學習軟體探索虎斑烏賊的捕食行為。取自<http://twsf.ntsec.gov.tw/activity/race-1/60/pdf/NPHSF2020-052001.pdf?65>

黃以慧（2018）。「賊」頭「賊」腦—探討烏賊的分數數感及其相關特性。第十七屆旺宏科學獎。取自https://www.mxeduc.org.tw/scienceaward/history/projectDoc/17th/doc/SA17-566_final.pdf

二、英文部分

【期刊文章】

Amarie, D., Bowers, J., Nimi, T., Wilson, J., Wagner, S., & Sittaramane, V. (2020). Evidence of learning and memory in the juvenile dwarf cuttlefish *Sepia bandensis*. *Learning & Behavior*, 48(4), 420-431.

Boal, J. G., Gonzalez, S. A., Hylton, R. A., & Hanlon, R. T. (1999). Effects of crowding on the social behavior of cuttlefish (*Sepia officinalis*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 38(1), 49-55.

Hanlon, R. T., Maxwell, M. R., Shashar, N., Loew, E. R., & Boyle, K. L. (1999). An ethogram of body patterning behavior in the biomedically and commercially valuable squid *Loligo pealei* off Cape Cod, Massachusetts. *The Biological Bulletin*, 197(1), 49-62.

Hansen, B., & Jespersen, S. N. (2017). Recent developments in fast kurtosis imaging. *Frontiers in Physics*, 5, 40.

Huang, Y. H., Lin, H. J., Lin, L. Y., & Chiao, C. C. (2019). Do cuttlefish have fraction number sense?. *Animal Cognition*, 22(2), 163-168.

Jiang, M., Ruan, P., Peng, R., Han, Q., & Jiang, X. (2020). Effects of size dominance on the survival, growth and physiological activities of juvenile pharaoh cuttlefish (*Sepia pharaonis*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 525, 151318.

Lord, J. P., Moser, R. M., Buonocore, E. M., Sylvester, E. E., Morales, M. J., Granitz, A. P., & Lucas, O. (2021). Dominance hierarchies in marine invertebrates. *The Biological Bulletin*, 240(1), 2-15.

Messenger, J. B. (1968). The visual attack of the cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Animal Behaviour*, 16(2-3), 342-357.

Nakajima, R., & Ikeda, Y. (2017). A catalog of the chromatic, postural, and locomotor behaviors of the pharaoh cuttlefish (*Sepia pharaonis*) from Okinawa Island, Japan. *Marine Biodiversity*, 47(3), 735-753.

【書籍及資料庫】

Sepia(*Sepia*) *latimanus* Quoy & Gaimard.(1832). *Cuttlefish and Squids of the world 2005*, from [http : //www.zen-ika.com/zukan/index-e.html](http://www.zen-ika.com/zukan/index-e.html).

【評語】 052007

1. 本科展作品主題在於探討成對的虎斑烏賊對峙時，體態和體色的變化、及體長/攝食和敵對之間的關聯性。單純的探討與烏賊的生態反應，環境變化對烏賊的體色、眼圈的變化的影響，並沒有太大意外的發現、中規中矩，最好有更進一步的探討，如體色的變化是什麼分子的影響等？
2. 研究作品的主題清楚且聚焦，實驗方法能妥善運用上課所學與生活知識結合，學以致用並詳加觀察和試驗。作者三人分工合作完成研究，簡報說明清晰，充分展現團隊合作的榜樣。
3. 作品說明書第 14 頁中，陳述「烏賊會用第 IIII 對觸腕立起身體」，應為「烏賊會用第 IV 對觸腕立起身體」之誤。
4. 實驗設計存在許多因素可造成實驗數據產生誤差，對實驗設計因素宜加以詳細說明，烏賊單隻攝食時間和雙隻搶食時間做比較能否作為敵對狀態下與攝食時間之關聯有待檢討，是否應為與雙隻攝食而非搶食比較？

作品簡報

黑生虎虎

—— 探討虎斑烏賊的成對敵對行為

高級中等學校組 動物醫學學科



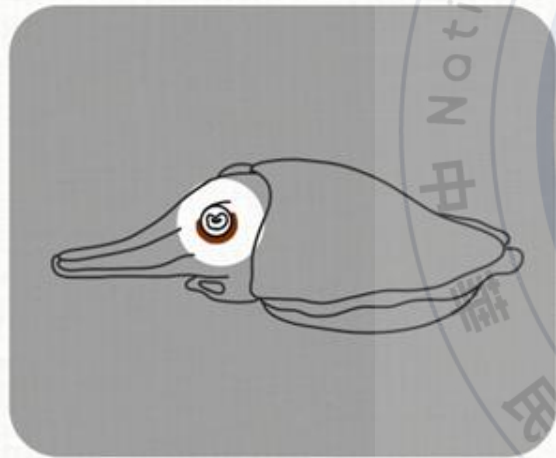
摘要 與 動機

虎斑烏賊(*Sepia pharaonis*)的研究並無發現有領域行為，但報導顯示在過度密集的環境中烏賊會出現互食、競爭等現象。身為獨居動物但卻擁有類似社會階層和捍衛領域的行為，這點引起我們的興趣。因此我們設計了成對烏賊於特定空間中相遇的實驗，發現烏賊間會出現黑色眼環、眼點或體緣螢光變色的等體色變化，形成類似對峙狀態。因此當上述情況持續發生時，我們將其稱為「敵對行為」。未來研究方向會更著重於敵對行為和領域行為是否有關聯。

瀏覽論文得知烏賊對於環境壓力特別敏感，會出現異常的行為反應。且目前科學界普遍缺乏關於多隻烏賊相遇的研究，於是我們設計實驗使成對烏賊在有限的空間中相遇，觀察烏賊在與另一隻同類共處一室時的體色變化和行為反應，希望能更加瞭解烏賊對於同類所展現的互動。

實驗一：觀察成對烏賊共處於一個空間的行為和體色變化

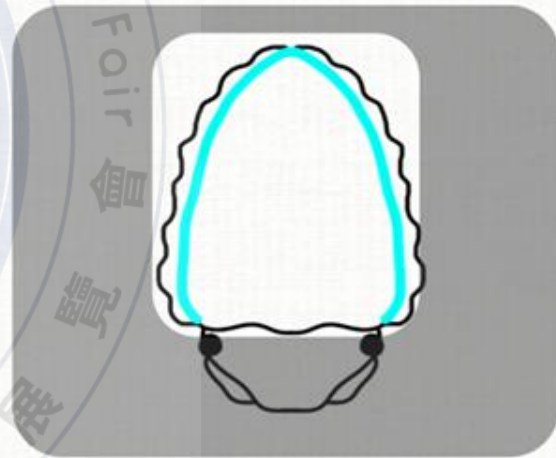
虎斑烏賊可透過多樣的體色變化進行物種之間的交流，分析大量影片後，發現以下三種體色變化在所有影片中出現最為普遍，且較容易觀察，因此將以下三種體色變化作為實驗的主要分析對象。



▲眼環 (eye ring)



▲眼點 (eye spots)



▲體緣螢光變色
(mantle margin stripe)

敵對狀態



▲眼環 (eye ring)



▲眼點 (eye spots)

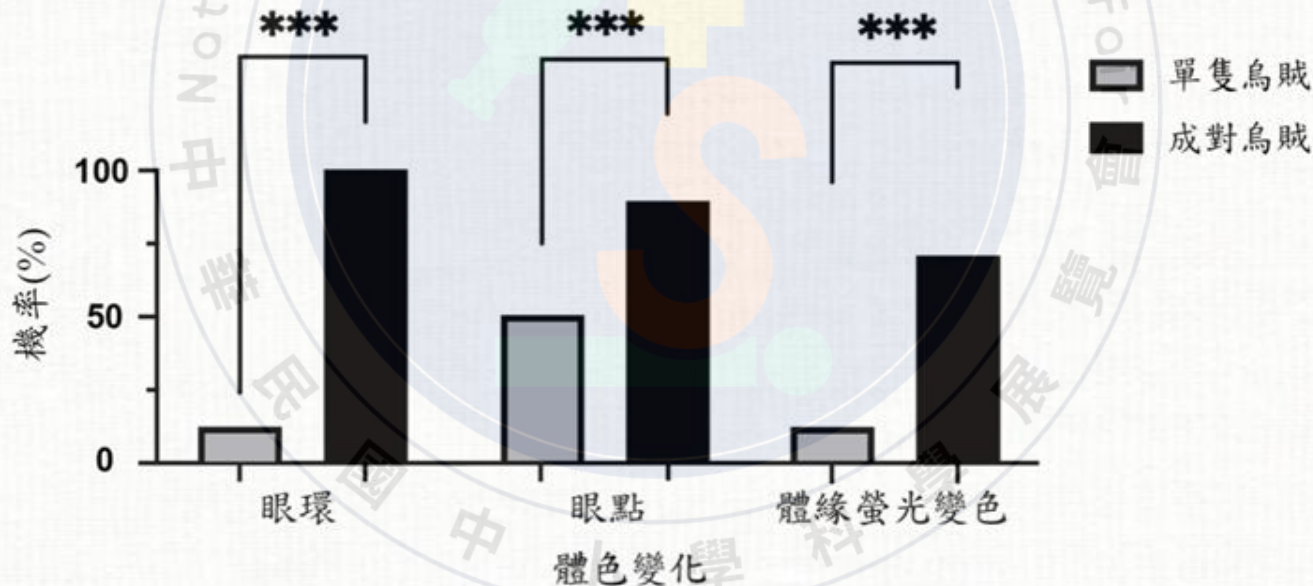


▲體緣螢光變色
(mantle margin stripe)

實驗一：觀察成對烏賊共處於一個空間的行為和體色變化

當兩隻烏賊共處於一個空間時：

黑色眼環出現機率是100%；眼點出現機率是80.02%；體緣螢光變色的機率是70.73%。



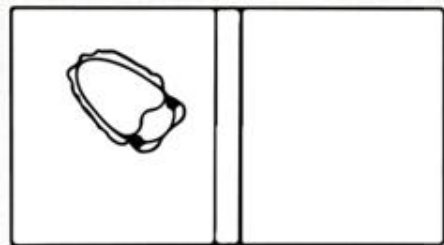
實驗二：探討黑色眼環是否可以做為敵對行為的判斷依據

一、敵對行為的定義：需符合以下三項條件

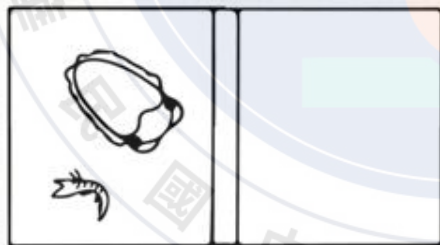
1. 整體發生明顯的角度轉動。
2. 產生肉眼可見的顯著體色或斑紋變化。
3. 持續注視對方。

成對烏賊可能同時存在敵對行為，亦可能發生僅單獨一方呈現敵對行為的情況。

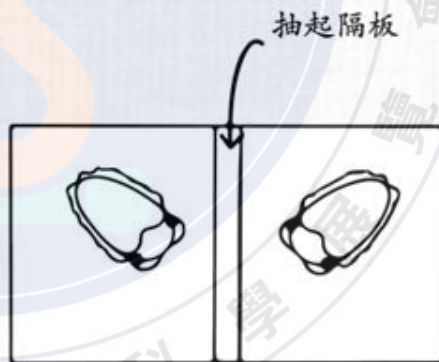
二、實驗方法：將烏賊置於下列四種情況中



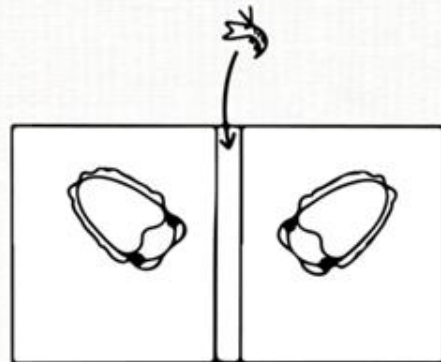
組別一
單隻烏賊



組別二
單隻烏賊加蝦

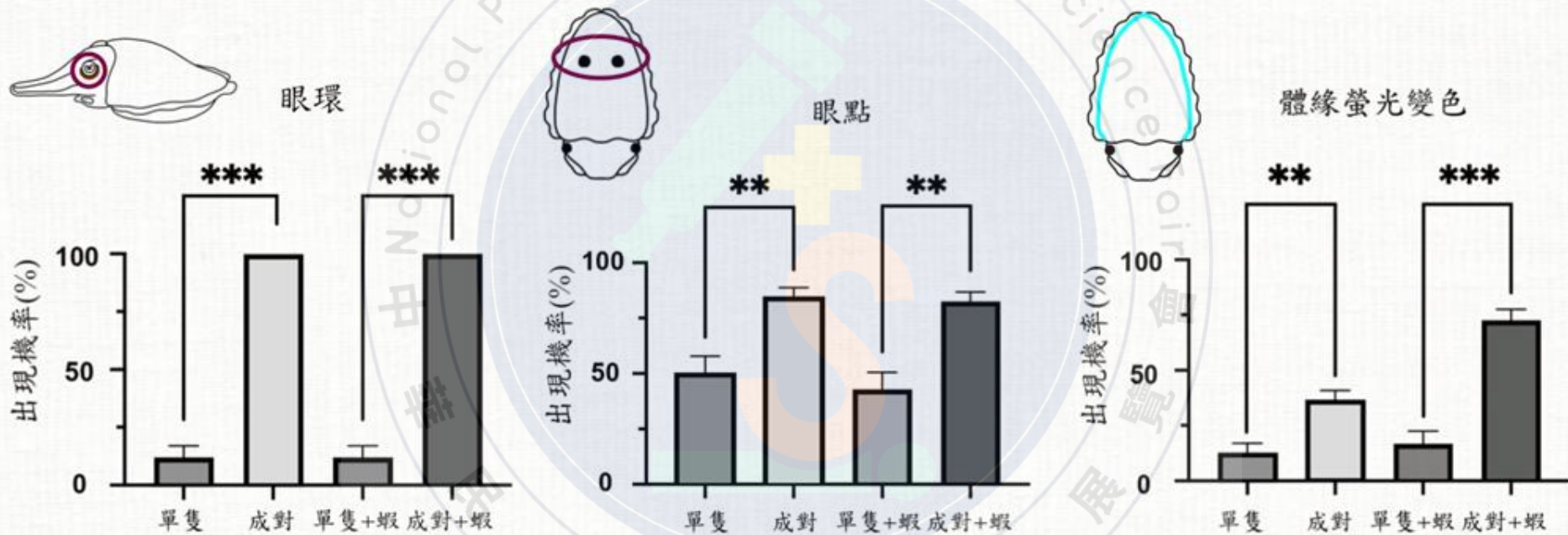


組別三
成對烏賊



組別四
成對烏賊加蝦

實驗二：探討黑色眼環是否可以做為敵對行為的判斷依據



➔ 眼環在成對情況時的出現機率極高，證實可以做為判定敵對行為出現與否的依據。

實驗三：探討烏賊的相對體型大小和敵對行為強弱之關聯

Q2.體型比例及敵對行為強弱之關係

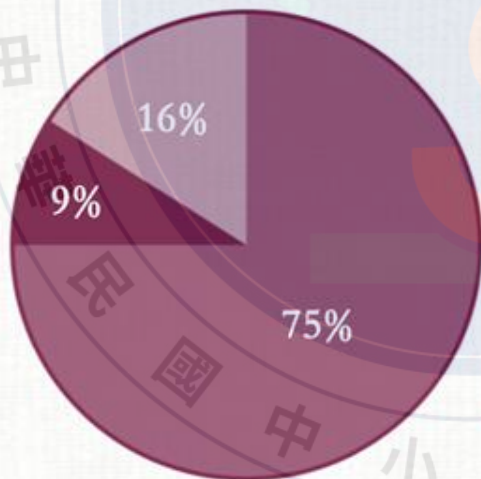
體型相對較小的烏賊通常表現較強烈的敵對行為。

Q3.敵對行為強弱及捕食成功率之關係

表現較強敵對行為的烏賊捕食成功率較低。

不同大小的烏賊表現相對較強敵對行為之次數統計

- 體型相對較小的烏賊表現較強烈的敵對行為
- 體型較大的烏賊表現較強烈的敵對行為
- 兩隻表現一樣強



表一 不同大小的烏賊較具敵對性的捕食成功率。

當M更具敵對性時 M的捕食成功次數	當L更具敵對性時 M的捕食成功次數	敵對強度相等時 M的捕食成功次數
11/59	3/7	3/13
當M更具敵對性時 M的捕食成功率	當L更具敵對性時 M的捕食成功率	敵對強度相等時 M的捕食成功率
18%	42%	23%

實驗三：探討烏賊的相對體型大小和敵對行為強弱之關聯

Q1. 探討體型比例及捕食成功率之關係

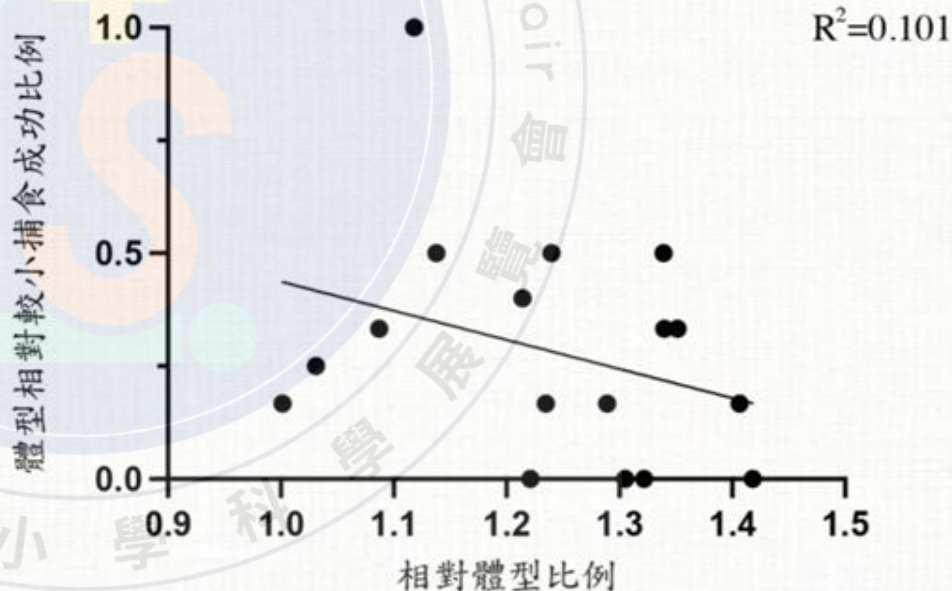
烏賊體型比例和捕食成功率之間並無顯著關聯。

烏賊相對體型比例是否
影響敵對行為表現強弱



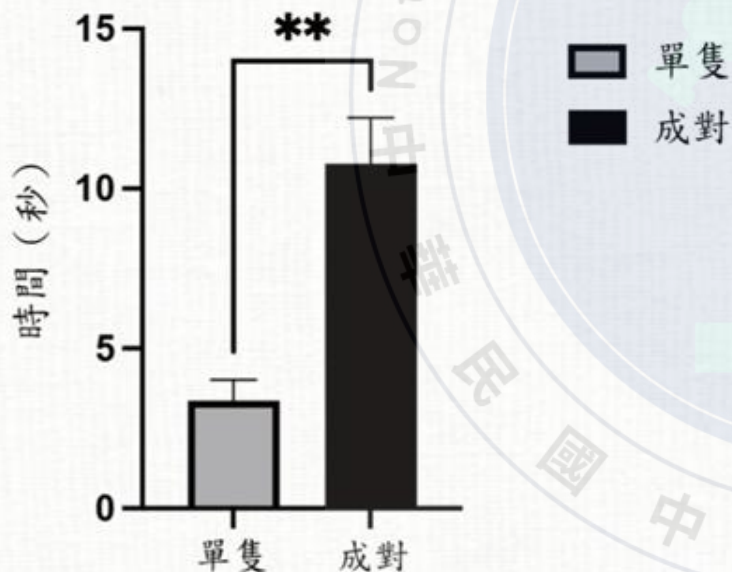
控制組：體型相對大的烏賊
實驗組：體型相對小的烏賊

相對體型比例和捕食成功率關係圖



實驗四：探討敵對狀態下的攝食行為

以單隻烏賊在不受干擾下的正常捕食實驗作為實驗的對照組，進行五隻不同烏賊單隻捕食時間和成對捕食時間比較，每隻烏賊會做六次實驗，並取其平均的捕食時間。



	自由度	p	t
捕食時間	4	0.00694	2.87

結果顯示成對烏賊的攝食時間顯著較單隻烏賊攝食長($p < 0.05^{**}$)

敵對行為會對捕食行為產生明顯的影響

結論

- 1 成對烏賊**在面對彼此時會產生**特定的體色變化**與行為
出現機率由高至低依序為產生眼環、眼點、體緣螢光變色，其中產生黑色眼環的機率為百分之百。
- 2 黑色眼環**的是**敵對行為**下的**必然條件**
黑色眼環的是敵對行為下的必然條件，且與看見獵物（溪蝦的放入）無關。
- 3 強烈的敵對行為**表現**與提高捕食成功率無正相關**
相對體型較小的烏賊，表現敵對行為的程度較相對體型較大的烏賊強烈。
- 4 敵對行為**會**對捕食行為**產生明顯的**影響**
烏賊在敵對狀態下進行捕食，與單隻烏賊在毫無外界干擾下的捕食時間有顯著的差異。

參考資料

- Jiang, M., Ruan, P., Peng, R., Han, Q., & Jiang, X. (2020). Effects of size dominance on the survival, growth and physiological activities of juvenile pharaoh cuttlefish (*Sepia pharaonis*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 525, 151318.
- Lord, J. P., Moser, R. M., Buonocore, E. M., Sylvester, E. E., Morales, M. J., Granitz, A. P., & Lucas, O. (2021). Dominance hierarchies in marine invertebrates. *The Biological Bulletin*, 240(1), 2-15.
- Nakajima, R., & Ikeda, Y. (2017). A catalog of the chromatic, postural, and locomotor behaviors of the pharaoh cuttlefish (*Sepia pharaonis*) from Okinawa Island, Japan. *Marine Biodiversity*, 47(3), 735-753.
- Hanlon, R. T., Maxwell, M. R., Shashar, N., Loew, E. R., & Boyle, K. L. (1999). An ethogram of body patterning behavior in the biomedically and commercially valuable squid *Loligo pealei* off Cape Cod, Massachusetts. *The Biological Bulletin*, 197(1), 49-62.